

**Über Faktoren zur Verbesserung
des kulturellen Nachweises
von Dermatophyten**

Eva-Marie Hertlein

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik
der Universität München
Direktor: Prof. Dr. A. Marchionini

ÜBER FAKTOREN ZUR VERBESSERUNG
DES KULTURELLEN NACHWEISES VON DERMATOPHYTEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Eva-Marie Hertlein

aus
Leverkusen

1959



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Prof. Dr. H. Götz
Correferent: Prof. Dr. A. Marchionini
Dekan: Prof. Dr. K. Kolle

Tag der mündlichen Prüfung: **16. Juli 1959**

MEINEM VATER
UND DEM GEDENKEN MEINER MUTTER
GEWIDMET

INHALTSANGABE

	Seite
I. EINLEITUNG	1
II. BISHERIGE ZÜCHTUNGSVERFAHREN DURCH NÄHRBODENZUSÄTZE	2
III. METHODIK UND MATERIAL	4
IV. EIGENE ERGEBNISSE	6
V. DISKUSSION	11
VI. ZUSAMMENFASSUNG	12
VII. LITERATURVERZEICHNIS	14
VIII. LEBENSLAUF	17

I. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Zu den Dermatomykosen im engeren Sinne gehört ein Krankheitsbild, das bislang in Deutschland die Bezeichnung Epidermophytie führte. Ihre Erreger zählten zu den Epidermophyten. Da die neuere Nomenklatur das Genus "Epidermophyton" nur noch für einen einzigen Erreger gelten lassen will (Epidermophyton floccosum), die übrigen Genera aber zu den Trichophyten zählt, ist vom mykologischen Standpunkt die alte Bezeichnung Epidermophytie nicht mehr gerechtfertigt. Da wir andererseits beispielsweise aus einer Fußläsion die Art des möglicherweise zu isolierenden Erregers klinisch nicht voraussagen können (Epidermophyton floccosum oder Trichophyten), hat GÖTZ eine neutrale Krankheitsbenennung vorgeschlagen, die auch im Ausland bekannt ist. Er empfiehlt für die bisher unter dem Namen Epidermophytie bekannten Krankheitsbilder das Wort "Tinea", was sinngemäß mit Flechte übersetzt werden könnte. Ursächlich beteiligt sind im allgemeinen die Pilzarten Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton rubrum und das Epidermophyton floccosum. Sie rufen ein in zunehmendem Maße zu beobachtendes Krankheitsbild hervor, das sich klinisch vor allem durch seinen mehr ekzemartigen Charakter und Chronizität auszeichnet. Vornehmlich die Interdigitalräume der Zehen, die Fußsohle, ferner die Inguinalregion und die Haut der Hände werden befallen. Den Hautveränderungen ist sehr oft ein quälender Juckreiz und eine Verschlimmerung in den warmen Jahreszeiten eigen. Differentialdiagnostisch kommen vor allem Ekzem, Pityriasis rosea, Psoriasis und das seborrhoische Ekzem in Betracht. Um diese Erkrankungen ausschließen zu können, ist stets ein exakter Pilznachweis anzustreben. Bei einem verhältnismäßig hohen Prozentsatz der Patienten werden die Nägel befallen. Die Nagelplatten werden bröckelig, rissig und teilweise schmutziggelb. Auch hier grenzt einzig und allein der Pilznachweis die Tinea unguium von einem Ekzem oder einer Psoriasis des Nagels ab. Zur Differenzierung der Pilzarten ist nach Züchtung des Erregers in Reinkultur neben der mikroskopischen Beurteilung auch die makroskopische erforderlich. Als Kulturböden sind in der Literatur Nährmedien angegeben, die im wesentlichen Agar, Kohlehydrate und Eiweiß enthalten. Statt des ursprünglichen Nährbodens von SABOURAUD wird heute in Deutschland vorwiegend der gleichwertige Grütz-Agar verwendet. Leider ist die Züchtung durch Hefen, Bakterien und vor allem saprophytische Schimmelpilze erschwert, da das Impfmateriel so gut wie immer damit verunreinigt ist. Hieraus erwächst nun das Problem, Bedingungen zu finden, die diese Verunreinigungen ausschalten

bzw. eine Überwucherung der pathogenen Pilze verhindern, dabei aber ihr Wachstum in keiner Weise negativ beeinflussen, sondern möglichst noch fördern.

II. BISHERIGE ZÜCHTUNGSVERFAHREN DURCH NÄHRBODENZUSÄTZE

Aus dem Bakteriologischen Institut "Pasteur" in Leningrad wird über 200 Pilzzüchtungsversuche von F. GRIEF und M. ITKIN (1929) berichtet. In ihrem Bestreben, die Anzahl der Reinkulturen zu erhöhen, unterzogen sie das pilzhaltige Material einer chemischen Vorbehandlung. Diese dauerte 3 - 6 Minuten und wurde erfolgreich mit 3 % Antiformin, 2 % Formalin, 1 % Carbol und mit Sublimat (1:1000 - 1:5000) durchgeführt. Am besten bewährte sich Sublimat (1:2000) und 2%iges Antiformin. Morphologisch und biologisch wurden die Pilze nicht beeinträchtigt.

Testversuche, Hautpilze in Reinkultur ohne verunreinigende Bakterien zu züchten, machte C. PISACANE (1937), der dem SABOURAUD-Nährboden 10 Prozent einer 0,25 - 0,3%igen Yatrenlösung zusetzte. Es kamen einerseits frisch aus Hautinfektionen isolierte Staphylokokken, andererseits ein Stamm *Trichophyton violaceum* zur Anwendung. Bei einer Yatrenkonzentration von etwa 1,75 - 2,0 % wuchsen bereits keine Staphylokokken mehr. Bei etwa 2 % zeigte sich, daß auch der *Trichophyton*-stamm im Wachstum beeinträchtigt worden war und bei 3 % fast nicht mehr wuchs. Lediglich zwischen 1,75 und 2,0 % erwies sich das Pilzwachstum günstiger als das der Bakterien. Andere Versuche mit Prontosil (ebenfalls 10 Prozent einer 0,25 - 2,0%igen Lösung) zeigten bei 1%iger Konzentration bereits ein verzögertes Wachstum; während sich die Staphylokokken bei 2 % immer noch gut entwickelten.

Zur Unterdrückung des Bakterienwuchses erwiesen sich auch Zusätze von Kalium- oder Natriumtellurit als gut geeignet (DUNCAN, GÖTZ).

Mit Beginn der Antibiotica-Ära wurde von verschiedenen Autoren versucht, mit Hilfe des bakterienfeindlichen Penicillins und Streptomycins die Zahl der Reinkulturen zu vergrößern. So stellte 1948 M. LITTMANN einen Nähr-

boden zusammen, der bakteriostatische Zusätze von Streptomycin (auf 1 ccm 30 Einheiten) und Kristallviolett 0,001%ig enthielt, außerdem 1 % Dextrose, 1 % granuliertes Pepton, 2 % Agar, destill. Wasser und 1,5 % entwässerte Rindergalle. Letztere sollte das Wachstum der Pilzkolonien verlangsamen. Im Vergleich zum SABOURAUD-Nährboden erwies sich der neue Nährboden jedoch sehr hemmend auf das Wachstum der Pilzkolonien, so daß sich ihre Kulturdurchmesser mit der Kontrollkolonie erst etwa am 56. Tag gleichkamen. Überlegen zeigte er sich verständlicherweise durch Verhinderung der Bakterienüberwucherung. Die Ausbeute bei den Kulturen aus Nägeln, Haaren und Hautschuppen war 4 mal höher.

Eine tschechische Mitteilung über die Anwendung von Penicillin und Streptomycin berichtete über vergleichende Versuche von JINDRICH GROH (1954), der eine Überlegenheit des Streptomycins gegenüber Penicillin feststellte, wenn er zu 10 ccm Glukose-Bouillon nach SABOURAUD 500 μ Streptomycin in 0,1 ccm Lösung zusetzte.

CLEMENT FLEURY (1952) gab einen Nährboden an, der sich ebenfalls zur Isolierung bewährt haben soll. Zu Fleischbrühe, Traubenmost, physiologischer Kochsalzlösung und Gelose wurde nach Absinken der Temperatur des zubereiteten Nährbodens auf 45°C ein Zusatz mit Blut gemacht, der pro ccm 5000 E Penicillin und Streptomycin enthält.

Eine andere Möglichkeit, Dermatophyten begünstigt zu isolieren, zeigte TERNO KATAMURA (1955 Japan). Da die antibiotischen Zusätze durch Hitze leicht zu beeinträchtigen sind, verwendete er die thermostabilen Furanderivate Furacin und Guanofuracin 1:50 000, Z-Furan 1:100 000 als Zusatz zum SABOURAUD-Agar. In diesen Konzentrationen sind die Kulturen in keiner Weise im Wachstum beeinträchtigt, und das Bakterienwachstum wird größtenteils zurückgehalten. Höhere Konzentrationen hemmen allerdings auch das Wachstum der Pilze. Guanofuracin wirkte weniger antibakteriell und färbte den Nährboden. Deshalb ist dieser Zusatz nicht zu empfehlen.

Bei MULLER-GEORG (1953) findet man außer diesen beiden Antibiotica noch einen dritten, für die ganze weitere Entwicklung aber bahnbrechenden Zusatz, um erstmalig das Wachstum vor allem der saprophytischen Schimmel zu unterdrücken: das Cycloheximid (Actidion). Dem SABOURAUD-Nährboden mit pH 5,5 gibt sie 20 E/ccm Penicillin, 40 μ /ccm Streptomycin und 0,1 mg/ccm Cycloheximid hinzu. Die Ergebnisse waren hervorragend. Als Aussaatmaterial dienten pilzhaltige Zehennägel und Rinderhaare. Die Dermatophyten

wuchsen 3 mal so häufig wie in den Kontrollröhren ohne Cycloheximid, wobei die meist in Reinkultur wachsenden Kolonien kein verändertes Aussehen zeigten.

Diese Ergebnisse konnten im wesentlichen durch AJELLO und GETZ, GEORG, FEGELER und andere Autoren bestätigt werden.

Ein Nachteil insbesondere der antibakteriellen Penicillin- und Streptomycin-zusätze ist deren Thermolabilität. Erhöhter Arbeitsaufwand und Mühen sind erforderlich, um stets frische Lösungen bereit zu haben. Auch nimmt nach gewisser Zeit ihre antibakterielle Wirkung ab. Aus diesem Grunde haben wir uns die Frage vorgelegt, ob es nicht günstiger wäre, statt Penicillin und Streptomycin das ebenfalls bakterienfeindliche aber stabile Natriumtellurit zu verwenden. Bisher lagen unseres Wissens keine Untersuchungen vor, die etwas über die Leistungsfähigkeit einer Kombination von Cycloheximid und Natriumtellurit aussagen. Würden sich diese beiden Substanzen überhaupt tolerieren? Zu Vergleichszwecken zogen wir daher 3 Nährbodenkombinationen heran.

III. METHODIK UND MATERIAL

Folgende Untersuchungsmethoden kamen zur Anwendung:

1. Zur Anfärbung der Hyphen und Sporen in den Nativpräparaten zwecks mikroskopischer Klärung, ob Pilze tatsächlich vorlagen, wurde wie bei uns üblich der Pilznachweis mit

9 Teilen einer 10%igen Kalilauge

+ 1 Teil Parker-Super chrome blue-black Tinte
geführt.

2. Bei den drei zu vergleichenden Nährböden, die auf Reagenzröhrchen verteilt wurden, handelte es sich jeweils um den Grütz III-Agar als Basis mit wechselnden Zusätzen zur Hemmung des Bakterien- und Schimmelpilzwachstums:

Nährboden I: 500 ccm Grütz-Agar + 5 ccm einer 1%igen Kaliumtellurit-
lösung.

Nährboden II: 500 ccm Grütz-Agar + 5 ccm einer 1%igen Kaliumtellurit-lösung + 250 mg Cycloheximid

Nährboden III: 500 ccm Grütz-Agar
+ 250 mg Cycloheximid
+ 10 000 E Penicillin
+ 20 000 μ Streptomycin (entspricht 40 μ /ccm).

Die Antibiotica sowie das Kaliumtellurit wurden dem abgekühlten, aber noch flüssigen Agar zugegeben.

3. Zur Differenzierung der Arten kam neben der mikroskopischen Prüfung ein Maismehl-Glukose-Agar zur Anwendung (empfohlen von Bocobo und Benham), der die Purpurpigmentbildung des *Trichophyton rubrum* fördert.

Untersucht wurden 207 Haut- und Nagelproben (1 mal Kopfhaar) von Patienten, welche die Poliklinik der Dermatologischen Universitätsklinik München aufsuchten und das klinische Bild einer Tinea als Haupt- oder Nebenfund boten. Die pilzsuspekten Hautschuppen wurden mit einem Skalpell abgehoben oder frische Blasendecken entnommen. Die erkrankten Nägel schabten wir mit dem scharfen Rand eines zerbrochenen Objektträgers ab. Mit dem erwähnten Gemisch von Parker-Tinte und Kalilauge ließen sich die vorhandenen Pilzfäden anfärben. Durch diese einfache Methode konnte das pilzpositive Material ohne große Mühe von dem negativen getrennt werden, da letzteres unberücksichtigt bleiben sollte. Die somit mikroskopisch erwiesenermaßen positiven Proben ließen wir in Petrischalen bis zu 4 Wochen liegen, um aus Arbeitsersparnisgründen die jeweils entnommenen Schuppen oder Nagelspäne einer inzwischen angefallenen größeren Patientenzahl auf die drei beschriebenen, verschieden zusammengesetzten und frisch zubereiteten Nährböden zu verimpfen. Abhängig von der verfügbaren Schuppenmenge eines Patienten wurden ein oder zwei Reagenzröhrchen von jeder der 3 zu prüfenden Nährbodenkombinationen mit je 5 Einsaatstellen versehen. Bei einem genau gekennzeichneten Teil der mikroskopisch positiven Proben wurde eine sofortige Verimpfung vorgenommen. Eine Änderung der Arbeitsweise wurde nach einigen Monaten durchgeführt, weil sich an Hand des Protokolls herausstellte, daß das Material mit der kürzeren Zeitspanne zwischen Entnahme und Verimpfung eine größere Bereitschaft zum Pilzwachstum aufwies als das mit längerer Lagerzeit. Bei Soforteinsatz hielten wir es für notwendig, einen vergleichenden Versuch mit dem Restmaterial des gleichen Patienten nach mindestens 4 Wochen zu wiederholen. Diejenigen Pilzstämme, die trotz der Zusätze sich nicht ohne Verunreinigungen entwickelten,

wurden durch Subkulturen auf Grütz III-Agar reingezüchtet und gegebenenfalls zwecks Differenzierung zwischen *Trichophyton mentagrophytes* und *Trichophyton rubrum* auf einen Maismehl-Glukose-Agar übertragen. Das Wachstum verfolgten wir bei Zimmertemperatur etwa 3 Wochen lang.

IV. EIGENE ERGEBNISSE

Wie bereits betont, waren ursprünglich die mikroskopisch positiven Materialproben in getrennten Petrischalen bis zum Verimpfen einige Zeit liegengeblieben, bis für die Untersuchungsmengen von jeweils etwa 30 Patienten unsere drei Nährbodenkombinationen mit ihren verschiedenen Zusätzen frisch zubereitet wurden und beimpft werden konnten. Es ergab sich dabei, daß das älteste Material bis zu 4 Wochen, das jüngste aber nur einen Tag unverarbeitet aufgehoben worden war. Das zusammenfassende Züchtungsergebnis ist der Tabelle 1 zu entnehmen.

Tabelle 1

Die zusammengefaßten Züchtungsergebnisse von 131 mikroskopisch pilzpositiven Patienten, deren Schuppen und Nagelspäne zwischen 1 Tag - 4 Wochen vor der Nährbodeneinsaat lagerten.

Entnahmeort	Mikroskopisch positiv	Kulturell positiv	%-Anteil
Zehen interdig.	47	25	53
Finger-Zehen-Nägel	47	10	21
Haut (Untersch., Fuß- sohle, Hände usw.)	37	15	40
	131	50	38

Wenn wir die Resultate aller 3 Selektivnährböden gemeinsam auswerten, so war in 38 % aller Fälle Wachstum eingetreten. Auf die drei Nährböden verteil-

ten sich die Kulturen mit wechselnder Häufigkeit (Tab. 1a).

Tabelle 1a

Die Leistungsfähigkeit der Selektivnährböden I, II und III, bezogen auf insgesamt 50 Pilzkulturen der Tab. 1.

Entnahmeort	Nährboden I	Nährboden II	Nährboden III
Zehen interdigital	16	21	18
Finger-Zehen-Nägel	2	9	9
Haut (Unterschenkel usw.)	6	10	14
	24	40	41

Aus der Tab. 1a geht hervor, daß mit der geschilderten Untersuchungstechnik die Nährböden II und III etwa gleichwertig, diese aber eindeutig dem Nährboden I überlegen sind. Vor allem erwies sich, daß das Kaliumtellurit keinen hemmenden Einfluß auf das schimmelfeindliche Cycloheximid ausübte.

Bei dieser Technik war - wie erwähnt - an Hand des Protokolls aufgefallen, daß die niedrigen Registrierzahlen (es wurde chronologisch numeriert) eine wesentlich geringere Wachstumshäufigkeit aufwiesen als die höheren. Bei ersterem handelte es sich um das Material, das bis zur Anlegung der Kultur am längsten liegen geblieben war. Aus diesem Grunde wurden die folgenden Schuppen- und Nagelproben sofort nach der Entnahme, mindestens aber innerhalb von 3 Tagen verimpft. Die daraus resultierende Aufstellung ließ nun eine eindeutige Steigerung der Wachstumshäufigkeit gegenüber der vorangegangenen um 27 % auf insgesamt 65 % erkennen (Tab. 2).

Tabelle 2

Die zusammengefaßten Züchtungsergebnisse von 76 mikroskopisch pilzpositiven Patienten, deren Schuppen und Nagelspäne sofort verimpft oder höchstens bis zu 3 Tagen vor der Nährbodeneinsaat lagerten.

Entnahmeort	Mikroskopisch positiv	Kulturell positiv	%-Anteil
Zehen interdigital	29	23	79
Finger-Zehen-Nägel	27	16	59
Haut (Untersch. usw.)	19	10	52
Kopfhaar	1	1	-
	76	50	65

Die positiven Kulturen verteilten sich auf die drei Selektivnährböden wie folgt (Tab. 2a).

Tabelle 2a

Die Leistungsfähigkeit der Selektivnährböden I, II und III, bezogen auf insgesamt 50 Pilzkulturen der Tab. 2.

Entnahmeort	Nährboden I	Nährboden II	Nährboden III
Zehen interdigital	17	22	17
Finger-Zehen-Nägel	5	14	9
Haut (Untersch. usw.)	8	10	9
Kopfhaar	-	1	1
	30	47	36

Bei einem Vergleich der Tabellen 1 und 2 ist wohl der Unterschied in der Häufigkeit der isolierten Pilze aus Nagelspänen am auffälligsten (Tab. 1 = 21 %, Tab. 2 = 59 %). Auch bei den Schuppen der Zehenzwischenräume ist das Resultat wesentlich besser, stieg es doch von 53 % (Tab. 1) auf 79 % (Tab. 2), das der übrigen Körperhaut von 40 % (Tab. 1) auf 52 % (Tab. 2).

Bei genügend vorhandener Materialmenge - was leider nicht immer zutraf - konnten von den in Tab. 2 erfaßten positiven Fällen 20 nach 4 Wochen noch einmal verimpft werden. Dabei stellte sich heraus, daß nicht einmal mehr die Hälfte anging, züchteten wir bei der wiederholten Kultur doch nur 7 mal einen Erreger. Dieser Befund spricht in dem Sinne, daß durch die Lagerung Pilzsporen und -hyphen im Untersuchungsmaterial an Lebensfähigkeit rasch verlieren. Um die Kulturausbeute im Laboratorium möglichst hoch zu halten, folgt aus unseren Beobachtungen die Notwendigkeit einer möglichst sofortigen Überimpfung des Materials nach der Abnahme.

Von besonderem Interesse war natürlich die Frage nach dem geeignetsten der 3 geprüften Selektivnährböden. Welcher Nährboden erlaubte am häufigsten die Entwicklung einer Pilzkultur aus Einsaatmaterial? Als Grundlage dieser Untersuchung diente uns die Technik, das entnommene Material eines Patienten immer gleichmäßig auf die Nährböden I, II und III zu verteilen. Bei geringen Mengen überimpften wir pro Röhrchen und Selektivmedium jeweils 5 (notfalls nur 4) Schuppen- oder Nagelpartikel. Verfügt wir über mehr Material, dann konnten wir weitere Röhrchen mit je 5 Einsaatteilchen anlegen, aber immer bemühten wir uns, pro Patient und Selektivnährboden die gleiche Zahl pilzhaltiger Schuppenteilchen zur Bebrütung zu bringen. Auf diese Weise waren auf jedem der 3 Selektivnährböden jeweils 1428 Einsaaten erfolgt. Eine Auszählung der ausgekeimten Pilze der Keratinpartikel ergab, daß auf dem Nährboden II sich 293 Kolonien, auf dem Nährboden III 227 Kolonien, und auf dem Nährboden I 155 Kolonien entwickelt hatten. Das spricht für die Überlegenheit des Nährbodens II, der 250 mg Cycloheximid und 5 ccm einer 1%igen Kaliumtelluritlösung enthielt.

Rechnen wir die Ergebnisse der Tab. 1a und 2a zusammen, so erhalten wir die Tab. 3. Wir sehen, daß der Nährboden II mit Kaliumtellurit und Cycloheximid die meisten positiven Kulturergebnisse aufweist, nämlich 86 von 100 gewonnenen Kulturen. Es folgt der Nährboden III mit Cycloheximid + Penicillin + Streptomycin, der in 76 von 100 Fällen zum Pilzwachstum führte, und dann erst mit der geringsten Wachstumshäufigkeit der Nährboden I, der nur Tellur enthielt (54 Kulturen). Auch bei der Züchtung des Pilzes aus der interdigitalen Epidermis der Füße sowie aus den Nagelspänen erwies sich der Nährboden II gegenüber I und III als geeigneter.

Tabelle 3

Vergleich der Leistungsfähigkeit der 3 Selektivnährböden.

Entnahmeort	insgesamt gewonnene Zahl d. Kulturen	Nährboden:		
		I	II	III
Zehen interdigital	von insgesamt 48 wuchsen	33	43	35
Nägel	" " 26 "	7	23	18
Haut (+Haar)	" " 26 "	14	20	23
von insgesamt 100 wuchsen		54	86	76

Das pilzhaltige Material, aus dem wir die 100 Kulturen der Tab. 3 züchteten, war auf 138 Röhrchen je Nährboden verteilt worden. Die meisten Reinkulturen konnten mit 94 Röhrchen auf dem Nährboden II erzielt werden. In 8 Röhrchen hatten sich Verunreinigungen durch Hefe, Bakterien oder meist Schimmel hinzugesellt. Der Nährboden III führte zu 79 Reinkulturen und 16 gleichzeitigen Verunreinigungen, der Nährboden I zu 35 Reinkulturen und 31 begleitenden Verunreinigungen. Diese Überlegenheit des Selektivnährbodens II geht aus der Tab. 4 hervor.

Tabelle 4

Der Einfluß der Selektivnährböden I - III auf die Häufigkeit von Reinkultur und Verunreinigung in je 138 Kultur Röhrchen

	Nährboden I	Nährboden II	Nährboden III
rein gewachsen	35	94	79
mit Verunreinigung	31	8	16
nur Verunreinigung	59	16	12
kein Wachstum	13	20	31
insgesamt	138	138	138

Um eine Differenzierung der Arten vornehmen zu können, wurden die Pilze nach Reinzüchtung auf normalen Grütz III-Agar überimpft und nach einer gewissen Zeit auf einen Maismehl-Glukose-Agar (empfohlen von Bocobo und Benham) übertragen. Auf ihm wird die Purpurpigmentbildung des *Trichophyton rubrum* gefördert. Letzteres war 61 mal gezüchtet worden, das *Trichophyton mentagrophytes* 36 mal, 33 mal als granulöser Typ, 3 mal als flaumiger. 2 Pilze konnten nicht eindeutig differenziert werden. Aus einem Interdigital-Präparat der Zehen isolierten wir ein *Epidermophyton floccosum*. Der häufigste Pilz war somit der *Trichophyton rubrum*, ein Befund, der unterschiedlich interpretiert werden kann (GÖTZ). Die *Trichophyten* zeigten folgende Verteilung:

Zehen interdigital:	19 Trich. mentagr.	29 Trich. rubrum
Finger-Zehen-Nägel:	11 " "	15 " "
Haut (Untersch. usw.):	6 " "	17 " "

Ein wesentliches unterschiedliches Verhalten der einzelnen Kolonien im makroskopischen Aussehen auf den drei verschiedenen Nährböden und im Vergleich zum Normalagar stellten wir nicht fest.

V. DISKUSSION

Bei der geschilderten Versuchsreihe wurden die bereits bekannten Zusätze Cycloheximid, Streptomycin und Penicillin (Nährboden III) sowie Kaliumtellurit (Nährboden I) verwendet. Zum Vergleich wurde die bisher noch nicht geprüfte Kombination Cycloheximid + Kaliumtellurit (Nährboden II) herangezogen. Die größte Ausbeute ergab der Nährboden II. Er wies die stärkste Wachstumshäufigkeit der Pilze und die größte Anzahl der Reinkulturen auf. Der überwiegende Teil der erhaltenen Pilzkulturen entwickelte sich frei von Verunreinigungen. Die Pilzarten zeigten das gewohnte Aussehen, wiesen also keine Beeinflussung durch die Zusätze auf. Der Nährboden III mit den Zusätzen, wie sie GEORG als erste mit gutem Erfolg angewendet hatte, stellte sich sogar als etwas unterlegen heraus. Hieraus folgt, daß es nicht erforderlich ist, bei der Isolierung von Dermatophyten die bei längerer Aufbewahrung in ihrer Wirksamkeit unbeständigen antibakteriellen Antibiotica

zu verwenden, sondern daß das billigere und wirkungsbeständige Kaliumtellurit vollwertig einzuspringen vermag.

Aber noch ein weiterer Faktor ist für die Häufigkeit einer positiven Züchtung von Interesse. Die durchschnittliche Ausbeute an pathogenen Pilzen von 65 % bei einer sofortigen Verimpfung (ausnahmsweise bei einer Lagerzeit bis zu drei Tagen) sinkt rapide ab, wenn man das entnommene Material längere Zeit aufhebt. So ergab sich bei einer Anzahl von pilzhaltigen Keratinproben, die etwa 1 - 30 Tage unverarbeitet liegen geblieben waren, nur eine Wachstums-häufigkeit der Pilze von 38 %. Zum Vergleich stellten wir in 20 Fällen, von denen wir unmittelbar nach der Abnahme einen Teil des Materials verimpften und die positives Wachstum gezeigt hatten, nach 4 Wochen mit den Restschuppen einen Kontrollversuch an. Nur in 7 Fällen ergab sich Pilzwachstum, ein Befund, der die Bedeutung der sofortigen Kulturanlegung unterstreicht. Das Absterben der Sporen kann daher durch sofortiges Überimpfen des entnommenen Materials eingeschränkt werden. Wenn wir bedenken, wie resistent aus Kulturen gewonnene Pilzsporen sein können, verdient diese Beobachtung des raschen Absinkens der Lebensfähigkeit der Sporen und Mycelien in Haut- und Nagelschuppen Beachtung. Es ist noch unbekannt, welche Stoffe im Nagel (hier die stärkste Ertragsminderung mit 38 %) oder in der Haut vorhanden sein könnten, welche die pathogenen Pilze in ihrer Vitalität hemmen oder zerstören.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

1. Kulturell wurden 207 mikroskopisch pilzpositive Schuppen- und Nagelproben (Körperhaut, Zehen (interdigital), Nägel) auf Pilzwachstum untersucht. Zu diesem Zweck testeten wir 3 verschiedene Selektivnährböden, die jeweils GRÜTZ III plus bestimmte Zusätze enthielten, auf ihre Leistungsfähigkeit. Insgesamt züchteten wir 100 Kulturen. Die beste Ausbeute zeigte der Nährboden II, als Zusätze enthaltend Cycloheximid (0,5 mg/ccm) + Kaliumtellurit (0,01 %). Seine Leistungsfähigkeit von 86 % positiver Kulturen konnte weder vom Nährboden III (Cycloheximid (0,5 mg/ccm) + Penicillin (20 E/ccm) + Streptomycin (40 μ /ccm)), der 76 % Kulturen ergab, noch von Nährboden I (Kaliumtellurit (0,01 %)) erreicht werden, der nur 54 % Kulturen aufwies. Der Ersatz des thermolabilen und durch längere Aufbewahrung wirksamkeitsunbeständigen Strepto-

mycins und Penicillins durch das in Lösung jahrelang beständige Kaliumtellurit, das die schimmelpilzfeindliche Wirkung des Cycloheximids nicht aufhebt, stellt eine Verbilligung und Zeitersparnis in der Anfertigung von Selektivpilznährböden dar.

2. Bei der Verimpfung gingen wir technisch wie folgt vor:

a) Verimpfung des entnommenen Materials auf die Nährböden nach einer Zeitspanne von 1 - 30 Tagen.

b) Sofortige Verimpfung (Wartezeit höchstens bis zu 3 Tagen).

Eine Gegenüberstellung der beiden Methoden ergibt eine eindeutige Steigerung der Wachstumshäufigkeit von rund 38 % auf 65 % zu Gunsten der Sofortüberimpfung. Am augenfälligsten ist die Zunahme bei den Nagelspänen um 38 %, bei den Schuppen der Zehenzwischenräume um 26 %.

3. Die Differenzierung der Arten ergab einen wesentlich höheren Anteil des *Trichophyton rubrum* (61 %) gegenüber dem *Trichophyton mentagrophytes* (36 %). Dieser Befund steht in Übereinstimmung mit der allgemeinen Zunahme des "roten Pilzes". Ferner wurde ein *Epidermophyton floccosum* interdigital gezüchtet. Bei 2 gezüchteten Pilzen war eine exakte Differenzierung nicht möglich.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

1. Ajello, L. und
M.E. Getz:
Recovery of dermatophytes from shoes and
a shower stall. J. invest. Dermat. 22, 17
(1954)
2. Bocobo, F.C. und
R.W. Benham:
Pigment produktion in the differentiation
of Trichophyton mentagrophytes and Tricho-
phyton rubrum, Mycologica 41, 291 (1949)
3. Duncan, I. T.:
Mycology in relation to dermatology.
In: Modern trends in dermatology v.
Mac Kenna, London, Butterworth and Co.
Publishers (1948, S. 244)
4. Fegeler, F.:
Cycloheximid - (Actidion) - Agar, ein
Fortschritt in der Züchtung von Dermatophy-
ten: Dermatologica 113, 65 (1956)
5. Fleury, Clement:
Milieu pour l'isolement, et la culture de
champignons microscopiques agents de
mycoses. (Soc. de Physique et d'Histoire
Nat., Genève, 16.X.1952)
6. Georg, Lucille:
Use of a cycloheximide medium for isolation
of dermatophytes from clinical materials.
(Arch. of Dermat.) 67, 355-361 (1953)
7. Götz, H.:
Beitrag zur gehäuften Auffindung des Tri-
chophyton rubrum (Epidermophyton rubrum
Castellani) in der Gegenwart. Z. Haut-
und Geschlechtskrankheiten 25, 93 (1958)
8. Götz, H.:
Gegenwärtige Probleme und Ergebnisse der
Dermatomycoseforschung. Z. Haut- und
Geschlechtskrankheiten 8, 3 (1950)

9. Götz, Hans: Erkennung und Behandlung der Hautmykosen, Deutsche Med. Wschr. 1958, S. 1189
10. Grief, F. und M. Itkin: Über Herstellung von Keimkulturen der Dermatomyceten mit Hilfe von vorbereitender chemischer Bearbeitung des Aussaat-Materials, Zbl. 31, 206 (1929)
11. Groh, Jindrich: The use of penicillin and streptomycin in the isolation of skin fungi, 90, 15 (1954/55)
12. Kitamura, Terno: Fundamental experimentation of media containing furan derivatives for the isolation of dermatophyte. Jap. J. Dermat. 65, 325-329 mit engl. Zus. fss. (1955) Zbl. 95, 88 (a56)
13. Littmann, M. L.: Grooth of pathogenic fungi on a new culture medium. Amer. J. Clin. Path. 18, 409-420 (1948)
14. Pisacane, C.: Influenza di alcune sostanze sullo sviluppo culturale di miceti e di batteri. Soc. ital. Dermat. Nr. 1, 68-70 (1937)
15. Sharville, Denis und J. M. Talbot: Cycloheximide in the isolation of dermatophytes. Brit. J. Dermat. 66, 214-217 (1954).

Es sei mir gestattet, dem Direktor der Dermatologischen Klinik und Poliklinik der Universität München, Herrn Prof. Dr. A. Marchionini, für die Arbeitsmöglichkeit in seinem Hause ergebenst zu danken.

Mein ganz besonderer Dank gebührt Herrn Prof. Dr. H. Götz, für sein in jeder Weise großzügiges Entgegenkommen und das Interesse, das er der Durchführung der Arbeit entgegenbrachte.

Auch Fräulein Marion Schmidt möchte ich danken für ihre Hilfsbereitschaft und Unterstützung bei den Laborarbeiten.

VIII. LEBENS LAUF

Am 1. April 1928 wurde ich, Eva-Marie Hertlein, als Tochter des Chemikers Dr. Hans Hertlein und seiner Ehefrau Paula, geb. Herbart, in Leverkusen geboren. Dort wuchs ich auf und besuchte von 1934 - 1938 die Volksschule, anschließend bis 1946 die Oberschule. Im Frühjahr 1947 beendete ich meine Schulzeit nach einem Sonderlehrgang in Opladen mit der Reifeprüfung.

Da ein Studium der Medizin an der Universität zu dieser Zeit nicht möglich war, besuchte ich zunächst die Höhere Handelsschule, nach erfolgreicher Abschlußprüfung 1948 eine Haushaltungsschule und legte ein halbjähriges Krankenpflegepraktikum ab. Nachdem ich vorübergehend als kaufmännische Angestellte tätig war, trat ich 1950 in die Schule für med. -techn. Assistentinnen in Köln ein.

Die staatliche Prüfung für med. -techn. Assistentinnen bestand ich im Frühjahr 1952. Anschließend begann ich mit dem Studium der Medizin in Köln. Dort legte ich im Frühjahr 1955 auch das Physikum ab. Zwei meiner klinischen Semester studierte ich in Wien, vier in München.

